

RESSALVA

Atendendo solicitação do(a)
autor(a), o texto completo desta tese
será disponibilizado somente a partir
de 02/03/2020.



unesp

UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA
"JÚLIO DE MESQUITA FILHO"
Campus de Botucatu



DETECÇÃO E CARACTERIZAÇÃO DE HEMOPROTOZOÁRIOS E ECTOPARASITAS EM *Nasua nasua* E *Didelphis* spp.

MARIA REGINA LUCAS DA SILVA

Tese apresentada ao Instituto de Biociências, Campus de Botucatu, UNESP, como parte dos requisitos para obtenção do título de Doutora no Programa de Pós-Graduação em Biologia Geral e Aplicada, Área de concentração Biologia de Parasitas e Microorganismos.

Profa. Adjunta Lucia Helena O'Dwyer de Oliveira

**BOTUCATU – SP
2018**



unesp

UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA
"JÚLIO DE MESQUITA FILHO"
Campus de Botucatu



UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA

"Julio de Mesquita Filho"

INSTITUTO DE BIOCÊNCIAS DE BOTUCATU

DETECÇÃO E CARACTERIZAÇÃO DE HEMOPROTOZOÁRIOS E
ECTOPARASITAS EM *Nasua nasua* E *Didelphis* spp.

MARIA REGINA LUCAS DA SILVA

PROFA. ADJUNTA LUCIA HELENA O'DWYER DE OLIVEIRA

Tese apresentada ao Instituto de Biociências, Campus de Botucatu, UNESP, como parte dos requisitos para obtenção do título de Doutora no Programa de Pós-Graduação em Biologia Geral e Aplicada, Área de concentração Biologia de Parasitas e Microorganismos.

Profa. Adjunta Lucia Helena O'Dwyer de Oliveira

**BOTUCATU – SP
2018**

FICHA CATALOGRÁFICA ELABORADA PELA SEÇÃO TÉC. AQUIS. TRATAMENTO DA INFORM.
DIVISÃO TÉCNICA DE BIBLIOTECA E DOCUMENTAÇÃO - CÂMPUS DE BOTUCATU - UNESP
BIBLIOTECÁRIA RESPONSÁVEL: ROSANGELA APARECIDA LOBO-CRB 8/7500

Silva, Maria Regina Lucas da.

Detecção e caracterização de hemoprotozoários e ectoparasitas em *Nasua nasua* e *Didelphis* spp. / Maria Regina Lucas da Silva. - Botucatu, 2018

Tese (doutorado) - Universidade Estadual Paulista "Júlio de Mesquita Filho", Instituto de Biociências de Botucatu
Orientador: Lucia Helena O'Dwyer de Oliveira
Capes: 20100000

1. Animais silvestres. 2. *Babesia*. 3. Protozoário. 4. Quati - Parasito. 5. Gambá - Parasito.

Palavras-chave: Animais silvestres; *Hepatozoon americanum*; *Hepatozoon canis*; *Hepatozoon procyonis*; piroplasmas.

*Dedico aos meus pais (Sebastião Bernardino da Silva e Maria José Lucas da Silva) e a todos
que torceram por mim*

Agradecimentos

Agradeço primeiramente a Deus que me deu força nos momentos que eu mais precisava, que me orientou e me iluminou ao longo dessa caminhada.

À minha orientadora Lucia Helena O'Dwyer de Oliveira pela oportunidade, sem a qual eu não estaria aqui, por ter acreditado em mim, pela paciência, ensinamentos e compreensão. Além disso, a Lu em muitos momentos foi como uma mãe para mim. Antes de ser orientadora ela também é humana. Obrigada por tudo Lu.

Sou extremamente grata aos meu pais, que apesar da pouca escolaridade, tiveram discernimento para me apoiar e incentivar a progredir nos estudos. Ao meu irmão pelo carinho e companheirismo mesmo que distante.

Um agradecimento especial ao meu namorado Luis Fernando que sempre foi paciente, companheiro, amigo e maior incentivador. Te amo. Agradeço também a sua família em especial a sua mãe Cristina e seu pai Nivaldo, que sempre me receberam de braços abertos e se tornaram minha família aqui em São Paulo.

Agradeço também aos meus ex-professores Elza Amélia, Mauro Osvaldo e Suely Maria por sempre me apoiarem e por me incentivarem a vir para Botucatu fazer Mestrado e Doutorado. Com ajuda e orientação de vocês dei os meus primeiros passos na vida acadêmica.

Agradeço aos meus amigos Gilson Stanski, Alícia Giolo Hippólito, Mariana Teresa Barduco Ferreira, Anderson Aparecido Dias Santos, Junior de Carli, Jaqueline Muniz Bisca, Luna Scarpari Rolim e Larissa de Castro Demoner pelos momentos de descontração e risadas, que tornaram os dias em Botucatu mais leves. Levarei a amizades de vocês para a vida.

Aos funcionários do Departamento de Parasitologia, Alessandra, Olga, Roberto e Valdir, que sempre foram muito prestativos.

Ao Doutor Thiago Fernandes Martins e Sebastián Muñoz Leal pela identificação dos carrapatos.

Ao programa de Pós Graduação em Biologia Geral e Aplicada por todo aprendizado ao longo desses quatro anos.

À Capes pela bolsa de doutorado concedida, sem a qual eu não conseguiria realizar o curso.

Aos veterinários do CEMPAS pela ajuda na captura e coleta das amostras.

Aos funcionários da manutenção da Unesp que muitas vezes me ajudaram a olhar as armadilhas.

Enfim, agradeço a todos que de alguma forma contribuíram para realização deste trabalho.

*Tudo o que um sonho precisa para ser realizado é alguém que acredite
que ele possa ser realizado.*

Roberto Shinyashiki

SUMÁRIO

RESUMO	1
ABSTRACT	3
1. INTRODUÇÃO	5
2. REVISÃO DE LITERATURA	5
3. OBJETIVOS	13
4. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	15
5. CAPÍTULO 1 - A survey of haemoparasites and ectoparasites in <i>Nasua nasua</i> with a redescription of <i>Hepatozoon procyonis</i> based on morphological and molecular data	24
6. CAPÍTULO 2 - Molecular detection of hemoprotozoan in ticks collected on <i>Nasua nasua</i> from São Paulo, Brazil	52
7. CAPÍTULO 3 - <i>Didelphis albiventris</i> naturally infected with <i>Hepatozoon canis</i> in southeastern Brazil	78
8. CAPÍTULO 4 - Morphological and molecular characterization of hemoparasites in <i>Didelphis</i> spp. from Brazil	80
9. CONSIDERAÇÕES FINAIS	104

RESUMO

Animais silvestres são considerados reservatórios para uma infinidade de patógenos transmitidos por ectoparasitas, dentre os quais *Hepatozoon* spp. e piroplasmas; e os ectoparasitas atuam como vetores desses micro-organismos. O presente estudo teve por objetivo investigar a ocorrência de *Hepatozoon* spp., piroplasmas e ectoparasitas em *Nasua nasua* e *Didelphis* spp. da região peri-urbana e urbana dos municípios de Botucatu, Palmital e São Paulo, além de identificar os ectoparasitas e caracterizar morfológicamente e molecularmente os hemoparasitas encontrados. Foram coletados ectoparasitas e amostras de sangue de 69 *Didelphis albiventris*, 11 *Didelphis aurita* e 83 *N. nasua*. Também, foram coletadas amostras de baço e fígado de dois *N. nasua* e de 25 *D. albiventris*, para análise histológica. Os carrapatos foram identificados e dissecados para pesquisa de oocistos de *Hepatozoon* spp. e alguns exemplares tiveram seu DNA extraído para verificar a presença de hemoparasitas. Para identificação dos hemoparasitas foram realizados esfregaços sanguíneos, a PCR, clonagem, e posterior sequenciamento das amostras. Primeiramente, *Hepatozoon procyonis* foi identificado em *N. nasua*. Dois carrapatos *Amblyomma ovale*, coletados em *N. nasua*, também foram positivos para *Hepatozoon* spp. Um espécimen foi positivo para *H. procyonis* e o outro para *Hepatozoon* sp. próximo de um haplótipo de *Hepatozoon americanum*. Um piroplasma próximo de *Babesia* sp. capybara foi detectado em *Amblyomma sculptum*, também coletado em *N. nasua*. Foi detectado, pela primeira vez, infecção por *Hepatozoon canis* em espécimes de *D. albiventris*, que também foram positivos para quatro haplótipos diferentes de piroplasmas. Para finalizar, *D. aurita* mostrou-se infectado por *Hepatozoon* sp. próximo de *Hepatozoon* sp. detectado em um marsupial chileno (*Dromiciops gliroides*). Como conclusão, nós fornecemos dados sobre a epidemiologia de hemoparasitas em *N. nasua* e, redescrevemos *H. procyonis* baseado em características morfológicas, morfométricas e moleculares. Um haplótipo de *H. americanum* foi detectado, pela

primeira vez, em *A. ovale* e pode representar risco de infecção por *H. americanum* em cães da região de Botucatu. Provavelmente, *D. albiventris* é um hospedeiro acidental para *H. canis*, mas, se infecta com piroplasmas que devem ser mais bem estudados para serem corretamente caracterizados.

Palavras-chave: Animais silvestres, *Hepatozoon americanum*, *Hepatozoon canis*, *Hepatozoon procyonis*, piroplasmas.

ABSTRACT

Wild animals are considered reservoirs for several pathogens transmitted by ectoparasites, among which *Hepatozoon* spp., and piroplasms, and the ectoparasites are the vectors of these microorganisms. The present study aim to investigate the occurrence of *Hepatozoon* spp., piroplasms and ectoparasites in *Nasua nasua* and *Didelphis* spp., from peri-urban and urban regions of Botucatu, Palmital and São Paulo municipalities, besides to identify ectoparasites and characterize morphologically and molecularly the hemoparasites found. For this purpose, were collected ectoparasites and blood samples from 69 *Didelphis albiventris*, 11 *Didelphis aurita* e 83 *N. nasua*. In addition, tissue samples were collected from two *N. nasua* and 25 *D. albiventris* for histological analysis. Ticks were identified and dissected to recover oocysts of *Hepatozoon* spp. Some specimens of ticks had their DNA extracted for identification of hemoparasites. For parasitological diagnosis, blood smears were performed, for subsequent identification and morphometry of the parasites. The molecular diagnosis was performed by PCR or cloning and sequencing. First, we detected *Hepatozoon procyonis* infecting *N. nasua*. *Amblyomma ovale* collected on *N. nasua* was also infected by *H. procyonis* and by *Hepatozoon* sp. closely related to a *Hepatozoon americanum* haplotype. A piroplasm closely related to de *Babesia* sp. capybara was detected in *Amblyomma sculptum* collected also on *N. nasua*. We detected, for the first time, *H. canis* infecting specimens of *D. albiventris*, which was also infected with four different haplotypes of piroplasms. To finalize, *Hepatozoon* sp. closely related to *Hepatozoon* sp. detected from a Chilean marsupial infected *D. aurita*. In conclusion, we provided epidemiological data on hemoparasites infection in *N. nasua*, and redescribed *H. procyonis* based on morphological, morphometrical and molecular characteristics. One *H. americanum* haplotype was detected, for the first time, in *A. ovale* representing a risk of infection for dogs from Botucatu region.

Probably, *D. albiventris* is an accidental host for *H. canis*, but is infected with piroplasms that should be better studied and characterized.

Keywords: *Hepatozoon americanum*, *Hepatozoon canis*, *Hepatozoon procyonis*, piroplasms, wild animals.

1. INTRODUÇÃO

Inúmeras espécies de animais silvestres atuam como reservatórios de protozoários e, devido às mudanças climáticas, aquecimento global e urbanização, muitos desses animais adquiriram hábito sinantrópico (LLEDÓ et al., 2010). Consequentemente, os mamíferos silvestres infestados por ectoparasitas podem entrar em contato com animais domésticos, com quem compartilham os mesmos ectoparasitas, oferecendo risco de transmissão de doenças aos animais domésticos e ao homem (FIGUEIREDO et al., 1999).

Dentre os micro-organismos transmitidos por artrópodes, e que tem animais silvestres como reservatórios, estão o *Hepatozoon* spp. e os piroplasmas. Hepatozoonose é a doença ocasionada pelos protozoários do gênero *Hepatozoon* e acomete cães de áreas urbanas e rurais (O'DWYER et al., 2004; RUBINI et al., 2008). Piroplasmas são hemoparasitas de importância médica e veterinária, que incluem espécies de *Babesia* e *Theileria* (BARBOSA et al., 2017). *Babesia* spp. causam no homem, animais domésticos, animais de produção e animais silvestres, uma doença denominada de babesiose (LLEDÓ et al., 2010; YABSLEY e SHOCK, 2013).

Artrópodes como os carrapatos e as pulgas são ectoparasitas de ação irritativa e espoliadora e além do mais, assumem grande importância médica e veterinária por serem vetores de patógenos que causam doenças graves aos seres humanos e aos animais domésticos e silvestres (MULLER et al., 2005). A coleta dos ectoparasitas, identificação e exames com a finalidade de detectar patógenos, podem conduzir à descoberta de novas infecções parasitárias emergentes em animais e humanos (NELDER et al., 2005).

4. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ALECRIM, I.; PINTO, B.; AVILA, T.; COSTA, R.; PESSOA, I. Registro do primeiro caso de infecção humana por *Babesia* spp. no Brasil. **Revista de Patologia Tropical**, v. 12, p. 11-29, 1983.
- ALVARADO-RYBAK, M., SOLANO-GALLEGU, L., MILLÁN, J. A review of piroplasmid infections in wild carnivores worldwide: importance for domestic animal health and wildlife conservation. **Parasites and Vectors**, v. 9, p. 538, 2016.
- ALVES-COSTA, C. P. FONSECA, G. A. B.; CRISTÓFARO, C. Variation in the diet of the Brown-nosed coati (*Nasua nasua*) in southeastern Brazil, **Journal of Mammalogy**, v.85, n. 3, p. 478-482, 2004.
- AYALA, S. C.; D’ALESSANDRO, A.; MACKENZIE, R.; ANGEL, D. Hemoparasite infections in 830 wild animals from the eastern llanos of Colombia. **The Journal of Parasitology**, v. 59, n. 1, p. 52-59, 1973.
- BANETH, G.; BARTA, J. R.; SHKAP, V.; MARTIN, D.S.; MACINTIRE, D. K.; VINCENT-JOHNSON, N. Genetic and antigenic evidence supports the separation of *Hepatozoon canis* and *Hepatozoon americanum* at the species level. **Journal of Clinical Microbiology**, v.38, p.1298-1301, 2000.
- BARBOSA, A., REISS, A., JACKSON, B., WARREN, K., PAPANINI, A., GILLESPIE, G., STOKELD, D., IRWIN, P., RYAN, U. Prevalence, genetic diversity and potential clinical impact of blood-borne and enteric protozoan parasites in native mammals from northern Australia. **Veterinary Parasitology**, v.238, p.94–105, 2017.
- BARROS-BATTESTI, D. M.; ARZUA, M. Geographical distribution by biomes of some marsupial Siphonaptera from the state of Paraná. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, v. 87, p. 291-296, 1997.

- BIRKENHEUER, A. J.; WHITTINGTON, J.; NELL, J.; LARGE, E.; BARGER, A.; LEVY, M. G.; BREITSCHWERDT, E. B. Molecular characterization of a *Babesia* species identified in a North American raccoon. **Journal of Wildlife Diseases**, v. 41, n. 2, p. 375-380, 2006.
- BIRKENHEUER, A. J, MARR, H. S., HLADIO, N., ACTION, A. E. Molecular evidence of prevalent dual piroplasma infections in North American raccoons (*Procyon lotor*). **Parasitology**, v. 135, p. 33-37, 2008.
- BISHOP, R., MUSOKE, A., MORZARIA, S., GARDNER, M., NENE, V. *Theileria*: intracellular protozoan parasites of wild and domestic ruminants transmitted by ixodid ticks. **Parasitology**, v. 129, p. 271-283, 2004.
- BOTÊLHO, M. C. N.; OLIVEIRA, J. B.; LEITE, L. M. R. M.; NETO, I. P. B.; SILVA, L. A. M.; CAMPELLO, M. L. C. B.; AGUIAR, M. C. A.; LINARDI, P. M.; SERRA-FREIRE, N. M. Sifonápteros parasitos de marsupiais e pequenos roedores silvestres da reserva Biológica de Serra Negra, Pernambuco, Brasil – Registro de novos hospedeiros. **Revista da Universidade Rural, Série Ciências da Vida**, v. 22, n. 2, p. 71-74, 2003.
- CLARK, K. A. *Hepatozoon procyonis* infections in Texas. **Journal of Wildlife Diseases**, v. 9, p. 182-193, 1973.
- CLARK, K.; SAVICK, K.; BUTLER, J. *Babesia microti* in rodents and raccoons from northeast Florida. **The Journal of Parasitology**, v. 98, n. 6, p. 1117-1121, 2012.
- CRIADO-FORNELIO, A.; MARTINEZ-MARCOS, A.; BULING-SARANA, A.; BARBACARRETERO. Molecular studies on *Babesia*, *Theileria* and *Hepatozoon* in southern Europe Part I. Epizootiological aspects. **Veterinary Parasitology**, v. 113, p. 189-201, 2003.
- CRIADO-FORNELIO, A.; RUAS, J. L.; CASADO, N.; FARIAS, N. A. R.; SOARES, M. P.; MÜLLER, G.; BRUM, J. G. W.; BERNE, M. E. A.; BULING-SARANA, A.; BARBACARRETERO, J. C. New molecular data on Mammalian *Hepatozoon* species

- (Apicomplexa: Adeleorina) from Brazil and Spain. **Journal of Parasitology**, v. 92, n. 1, p. 93-99, 2006.
- DANTAS-TORRES, F.; FERREIRA, D. R. A.; MELO, L. M.; LIMA, P. C. P.; SIQUEIRA, D. B.; RAMEH-DE-ALBUQUERQUE, L. C.; MELO, A. V.; RAMOS, J. A. C. Ticks on captive and free-living wild animals in northeastern Brazil. **Experimental and Applied Acarology**, v. 50, p. 181-189, 2010.
- DAWOOD, K. E.; MORGAN, J. A. T.; BUSFIELD, F.; SRIVASTAVA, M.; FLETCHER, T. I.; SAMBONO, J.; JACKSON, L. A.; VENUS, B.; PHILBEY, A. W.; LEW-TABOR, A. E. Observation of a novel *Babesia* spp. in Eastern Grey Kangaroos (*Macropus giganteus*) in Australia. **International Journal for Parasitology: Parasites and Wildlife**, v. 2, p. 54-61, 2013.
- DEANE, L. M.; DEANE, M. P. Sobre dois hemocitozoários encontrados em mamíferos silvestres da região amazônica. **Revista do Instituto de Medicina Tropical de São Paulo**, v. 3, n. 3, p. 107 - 110, 1961.
- FIGUEIREDO, L. T. M.; BADRA, S. J.; PEREIRA, L. E.; SZABÓ, M. P. J. Report on ticks collected in the Southeast and Mid-West regions of Brazil: analyzing the potential transmission of tick-borne pathogens to man. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, v. 32, n. 6, p. 613-619, 1999.
- FIGUEIREDO, M.A.P.; SANTOS, A.C.G.; GUERRA, R.M.S.N.C. Ectoparasitos de animais silvestres no Maranhão. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, v. 30, n. 11, p. 988-990, 2010.
- HOMER, M. J.; AGUILAR-DELFIN, I.; TELFORD III, S. R.; KRAUSE, P. J.; PERSING, D. H. Babesiosis. **Clinical Microbiology Reviews**, v. 13, n. 3, p. 451-469, 2000.
- KAWABUCHI, T.; TSUJI, M.; SADO, A.; MATOBA, Y.; ASAKAWA, M.; ISHIHARA, C. *Babesia microti*-like parasites detected in feral raccoons (*Procyon lotor*) captured in Hokkaido, Japan. **Journal of Veterinary Medical Science**, v. 67, n. 8, p. 825-827, 2005.

- JINNAI, M., KAWABUCHI-KURATA, T., TSUJI, M., NAKAJIMA, R., FUJISAWA, K., NAGATA, S., KOIDE, H., MATOBA, Y., ASAKAWA, M., TAKAHASHI, K., ISHIHARA, C. Molecular evidence for the presence of new *Babesia* species in feral raccoons (*Procyon lotor*) in Hokkaido, Japan. **Veterinary Parasitology**, v. 162, p. 241-247, 2009.
- LEE, J.Y., RYAN, U.M., JEFFERIES, R., MCINNES, L.M., FORSHAW, D., FRIEND, J.A., IRWIN, P.J. *Theileria gilberti* n. sp (Apicomplexa: Theileriidae) in the Gilbert's Potoroo (*Potorous gilbertii*). **Journal Eukaryotic Microbiology**, v. 56, p. 290–295, 2009.
- LINARDI, P. M. Checklist de Siphonaptera (Insecta) do Estado de São Paulo. **Biota Neotropica**, v. 11, p. 607-617, 2011.
- LINARDI, P. M.; SANTOS, J. L. C. *Ctenocephalides felis felis* vs. *Ctenocephalides canis* (Siphonaptera: Pulicidae): some issues in correctly identify these species. **Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária**, v. 21, n. 4, p. 345-354, 2012.
- LLEDÓ, L.; GIMÉNEZ-PARDO, C.; DOMÍNGUEZ-PENAFIEL, R. S.; GEGÚNDEZ, M. I.; CASADO, N.; CRIADO, A. Molecular detection of hemoprotozoa and *Rickettsia* species in arthropods collected from wild animals in the Burgos Province, Spain. **Vector-Borne and Zoonotic Diseases**, v. 10, n. 8, p. 735-738, 2010.
- MEHRKENS, L. R., SHENDER, L. A., YABSLEY, M. J., SHOCK, B. C., CHINCHILLA, F. A., SUAREZ, J., GILARDI, K. V. White-nosed coatis (*Nasua narica*) are a potential reservoir of *Trypanosoma cruzi* and other potentially zoonotic pathogens in Monteverde, Costa Rica. **Journal Wildlife Diseases**, v. 49, p. 1014-1018, 2013.
- MIZIARA, S. R.; PAIVA, F.; ANDREOTTI, R.; KOLLER, W. W.; LOPES, V. A.; PONTES, N. T.; BITENCOURT, K. Ocorrência de *Ixodes loricatus* Neumann, 1899 (Acari: Ixodidae) parasitando *Didelphis albiventris* (Lund, 1841), (Didelphimorphia: Didelphidae), em Campo

- Grande, MS. **Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária**, v. 17, n. 3, p. 158-160, 2008.
- MORAES, L. B.; BOSSI, D. E. P.; LINHARES, A. X. Siphonaptera parasites of wild rodents and marsupials trapped in three mountain ranges of the Atlantic Forest in southeastern Brazil. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, v. 98, n. 8, p. 1071-1076. 2003.
- MULLER, G.; BRUM, J. G. W.; BERNE, M. E. A; RIBEIRO, P. B. Occurrence of *Craneopsylla minerva minerva* (Rothschild, 1903) (Siphonaptera, Stephanocircidae) from *Didelphis albiventris* in the state of Rio Grande do Sul, Brazil. **Arquivos do Instituto Biológico**, v. 69, n. 4, p. 107-108, 2002.
- MULLER, G.; BRUM, J. G. W.; LANGONE, P. Q.; MICHELS, G. H.; SINKOE, A. L.; RUAS, J. L.; BERNE, M. E. A. *Didelphis albiventris* Lund, 1841, parasitado por *Ixodes loricatus* Neuman, 1899, e *Amblyomma aureolatum* (Pallas, 1772) (Acari: ixodidae) no Rio Grande do Sul. **Arquivos do Instituto Biológico**, v. 72, n. 3, p. 319-324, 2005.
- NELDER, M. P.; REEVES, W. K. Ectoparasites of road-killed vertebrates in northwestern South Carolina, USA. **Veterinary Parasitology**, v. 129, p. 313-322, 2005.
- O'DWYER, L.H.; SAITO, M.E.; HASEGAWA, M.Y.; KOHAYAGAWA, A. Tissue stages of *Hepatozoon canis* in naturally infected dogs from São Paulo state, Brazil. **Parasitology Research**, v.94, p.240-242, 2004.
- PAGLIA, A.P., FONSECA, G.A.B., RYLANDS, A.B., HERRMANN, G., AGUIARS, L.M.S., CHIARELLO, A.G., LEITE, Y.L.R., COSTA, L.P., SICILIANO, S., KIERULLFF, M.C.M., MENDES, S.L., TAVARES, V.C., MITTEMEIER, R.A., PATTON, J.L. Annotated checklist of Brazilian mammals. In: Arlington, V.A. (ed.), occasional papers in conservation biology, no. 6. , 2aed. **Conservational biology**, 2012.
- PAPARINI, A.; RYAN, U. M.; WARREN, K.; McINNES, L. M.; TORES, P.; IRWIN, P. J. Identification of novel *Babesia* and *Theileria* genotypes in the endangered marsupials, the

- woylie (*Bettongia penicillata ogilbyi*) and boodie (*Bettongia lesueur*). **Experimental Parasitology**, v. 131, p. 25-30, 2012.
- PASSOS, L. M. F.; GEIGER, S. M.; RIBEIRO, M. F. B.; PFISTER, K.; ZAHLER-RINDER., M. First molecular detection of *Babesia vogeli* in dogs from Brazil. **Veterinary Parasitology**, v. 127, p. 81-85, 2005.
- RAFAEL, J. A. Ocorrência de *Polygenis klagesi samuelis* na Amazônia brasileira (Siphonaptera: Rhopalopsyllidae). **Acta Amazonica**, v. 12, n. 1, p. 231-232, 1982.
- RECH, A.; BITTAR, C.M.; CASTRO, C.G.J.; AZEVEDO, K.R.; SANTOS, R.P.; MACHADO, A.R.L.; SCHWARTSMANN, G.; GOLDANI, L.; BRUNETTO, A.L. Asymptomatic babesiosis in a child with hepatoblastoma. **Journal of Pediatric Hematology/Oncology**, v. 26, p. 213, 2004.
- RICHARDS, C. S. *Hepatozoon procyonis*, n. sp., from the raccoon. **The Journal of Protozoology**, v.8, p.360-362, 1961.
- RÍOS, L.; ALVAREZ, G.; BLAIR, S. Serological and parasitological study and report of the first case human babesiosis in Colombia. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, v. 36, n. 4, p. 493-498, 2003.
- RODRIGUES, A. F. S. F.; MASSARD, C. L. Ectoparasites of *Nasua nasua* (Carnivora, Procyonidae) from an urban forest in Southeastern Brazil. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v. 58, n. 5, p. 969-971, 2006.
- RODRIGUES, A. F. S. F.; DAEMON, E.; MASSARD, C. L. Morphological and morphometrical characterization of gametocytes of *Hepatozoon procyonis* Richards, 1961 (Protista, Apicomplexa) from a Brazilian wild procionid *Nasua nasua* and *Procyon cancrivorus* (Carnivora, Procyonidae). **Parasitology Research**, v. 100, p. 347-350, 2007.

- RONG, J., BUNCE, M., WAYNE, A., PACIONI, C., RYAN, U., IRWIN, P. A high prevalence of *Theileria penicillata* in woylies (*Bettongia penicillata*). **Experimental Parasitology**, v. 131, p. 157–161, 2012
- RUBINI, A.S.; PADUAN, K.S.; CAVALCANTE, G.G.; RIBOLLA, P.E.M.; O'DWYER, L.H. Molecular identification and characterization of canine *Hepatozoon* species from Brazil. **Parasitology Research**, v.97, p.91-93, 2005.
- RUBINI, A.S.; PADUAN, K.S.; LOPES, V.V.A.H.; O'DWYER, L.H. Molecular and parasitological survey of *Hepatozoon canis* (Apicomplexa: Hepatozoidae) in dogs from rural area of São Paulo state, Brazil. **Parasitology Research**, v.102, p.895-899, 2008.
- SALVADOR, C. H.; CARVALHO-PINTO, C.; CARVALHO, R.; GRAIPEL, M. E.; SIMÕES-LOPES, P. C. Interação parasito-hospedeiro entre ectoparasitos (Ixodida & Siphonaptera) e gambás *Didelphis aurita* Wied-Neuwied, 1826 (Mammalia: Didelphimorphia), no continente e em ilhas do litoral de Santa Catarina, Sul do Brasil. **Biotemas**, v. 20, n. 4, p. 81-90, 2007.
- SCHNEIDER, C. R. *Hepatozoon procyonis* Richards 191, in Panamanian raccoon, *Procyon cancrivorus panamensis* (Goldman). **Revista de Biologia Tropical**, v. 15. n. 1, p. 123-135, 1968.
- SERRA-FREIRE, N. M. *Babesia ernestoi* n. sp., in *Didelphis marsupialis* L., 1758 and *D. albiventris* Lund, 1841, in Brazil. **Zentralblatt für Veterinärmedizin Reihe B**, v.26, n. 8, p. 614-622, 1979.
- SMITH, T.G. The genus *Hepatozoon* (Apicomplexa: Adeleina). **Journal of Parasitology**, v.82, p.565-585, 1996.
- SOARES, H.S., MARCILI, A., BARBIERI, A.R.M., MINERVINO, A.H.H., MOREIRA, T.R., GENNARI, S.M., LABRUNA, M.B. Novel piroplasmid and *Hepatozoon* organisms

- infecting the wildlife of two regions of the Brazilian Amazon. **International Journal of Parasitology: Parasites and Wildlife**, v. 6, p. 115–121, 2017
- SOUSA, K.C.M., FERNANDES, M.P., HERRERA, H.M., BENEVENUTE, J.L., SANTOS, F.M., ROCHA, F.L., BARRETO, W.T.G., MACEDO, G.C., CAMPOS, J.B., MARTINS, T.F., PINTO, P.C.E.A., BATTESTI, D.B., PIRANDA, E.M., CANÇADO, P.H.D., MACHADO, R.Z., ANDRÉ, M.R. Molecular detection of *Hepatozoon* spp. in domestic dogs and wild mammals in southern Pantanal, Brazil with implications in the transmission route. **Veterinary Parasitology**, v.237, p. 37-46, 2017a.
- SOUSA, K.C.M., FERNANDES, M.P., HERRERA, H.M., FRESCHI, C.R., MACHADO, R.Z., ANDRÉ, M.R. Diversity of piroplasmids among wild and domestic mammals and ectoparasites in Pantanal wetland, Brazil. **Ticks and Tick-Borne Diseases** <http://dx.doi.org/10.1016/j.ttbdis.2017.09.010>. 2017b.
- TELFORD, Jr. A. R.; FORRESTER, D. J. Hemoparasites of raccoons (*Procyon lotor*) in Florida. **Journal of Wildlife Diseases**, v. 27, n. 5, p. 486-490, 1991.
- THOISY, B.; MICHEL, J-C.; VOGEL, I.; VIÉ, J-C. A survey of hemoparasite infections in free-ranging mammals and reptiles in French Guiana. **Journal of Parasitology**, v. 86, n. 5, p. 1035-1040, 2000.
- WENYON, C.M. **Protozoology: a manual for medical, men, veterinarians and zoologists**. New York: W. Wood, 1926. 1514 p.
- WOLF, R.W., ARAGONA, M., MUÑOZ-LEAL, S., PINTO, L.B., MELO, A.L.T., BRAGA, I.A., COSTA, J.S., MARTINS, T.F., MARCILI, A., PACHECO, R.C., LABRUNA, M.B., AGUIAR, D.M. Novel *Babesia* and *Hepatozoon* agents infecting non-volant small mammals in the Brazilian Pantanal with the first record of the tick *Ornithodoros guaporensis* in Brazil. **Ticks and Tick-Borne Disease**, v.7, p. 449-456, 2016.

YABSLEY, M. J.; SHOCK, B. C. Natural history of Zoonotic *Babesia*: Role wildlife reservoirs.
International Journal for Parasitology: Parasites and Wildlife, v. 2, p. 18-31, 2013.

- Referências citadas de acordo com as normas da ABNT

9. Considerações Finais

- Neste estudo foi possível observar que *N. nasua* da região peri-urbana e urbana de Botucatu e São Paulo são infectados por *Hepatozoon procyonis*. Este parasita parece ser comum nestes animais pois, já foi detectado em outras regiões do país. Entretanto, os quatis capturados em Palmital não foram infectados por *H. procyonis*, provavelmente porque esses animais viviam restritos ao ambiente urbano e além disso, eles eram alimentados diariamente e se encontravam em boas condições nutricionais, o que pode ter interferido visto que, *Hepatozoon* spp. são parasitas oportunistas.
- *Didelphis albiventris* foi infectado por *Hepatozoon canis*. Porém, apenas dois animais de 69 analisados foram infectados, o que indicou que *D. albiventris* é apenas um hospedeiro acidental para este organismo. Além disso, *D. albiventris* também foi infectado por piroplasmas. Morfologicamente observamos um pequeno e um grande piroplasma. Novos estudos são necessários para determinar as (a) espécies (e) de piroplasma que acometem esses animais, bem como determinar o seu vetor e patogenia.
- *Didelphis aurita* capturado em São Paulo são infectados por *Hepatozoon* sp. filogeneticamente relacionado com *Hepatozoon* sp. (FJ719813 e FJ719814) detectado em *Dromiciops gliroides*, um marsupial amostrado no Chile. Novos estudos são necessários para caracterizar essa espécie de *Hepatozoon*.
- *Nasua nasua*, *D. aurita* e *D. albiventris* são infestados por ectoparasitas e várias espécies foram identificadas. DNA de *Hepatozoon* spp. circula em *Amblyomma ovale*. *Hepatozoon procyonis* e *Hepatozoon* sp. filogeneticamente próximo de *Hepatozoon americanum* foram detectados em *A. ovale*. DNA de *Babesia* sp.

filogeneticamente próximo de *Babesia* sp. capybara foi detectado em *Amblyomma sculptum*.

- Para finalizar, este estudo forneceu dados epidemiológicos sobre hemoparasitas e ectoparasitas em *N. nasua* e *Didelphis* spp., além de caracterizar filogeneticamente os hemoparasitas e redescrever *H. procyonis*.